

# 胡椒碱及其衍生物对原代培养心肌细胞损伤的保护作用\*\*★

王东晓, 刘屏, 廖洪波, 穆丽华, 马晓菲

## Protective effect of piperine and its derivatives on myocardial cells

Wang Dong-xiao, Liu Ping, Liao Hong-bo, Mu Li-hua, Ma Xiao-fei

### Abstract

**BACKGROUND:** Piperine is the lead compound of *Rhodobryum roseum* Limp that have protective effect on heart.

Simultaneously, the chemical constitution of piperine is relative simple, which can provide a foundation for the further study of anti-myocardial ischemia.

**OBJECTIVE:** To investigate the protective effect of piperine and its seven derivatives on cardiocytes injured by isoproterenol or hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ).

**METHODS:** Injured cardiocyte model was induced by isoproterenol and  $H_2O_2$ . And then the influence of piperine and its seven derivatives on injured cardiocytes was detected by MTT.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The  $7 \times 10^{-9}$  mol/L piperine,  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L methyl piperate,  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid pyrrolidine amide and  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid diethyl amide could significantly increased the survival of cardiocytes in the isoproterenol model group ( $P < 0.05$ ), but there was no dose-dependent manner. And the survival of cardiocytes was also significantly higher in the  $H_2O_2$  model group under the effect of  $7 \times 10^{-9}$  mol/L piperine,  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid pyrrolidine amide and  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid diethyl amide. In a word, piperine and its derivatives could protect the primary cultured cardiocytes from isoproterenol damage and  $H_2O_2$  damage. 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid pyrrolidine amide and 5-(3, 4-methylenedioxy phenyl)-2E, 4E-pentadienoic acid diethyl amide showed better protective effect than piperine.

Wang DX, Liu P, Liao HB, Mu LH, Ma XF. Protective effect of piperine and its derivatives on myocardial cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(37): 6943-6946. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

### 摘要

**背景:** 胡椒碱是滇产回心草心脏保护作用的主要物质基础, 同时, 其化学结构相对简单, 可进行结构修饰, 为进一步研发新型的抗心肌缺血的化合物奠定基础。

**目的:** 观察胡椒碱及其7个衍生物对异丙肾上腺素和过氧化氢损伤心肌细胞的保护作用。

**方法:** 采用异丙肾上腺素和  $H_2O_2$  诱导原代培养大鼠心肌细胞致心肌细胞损伤模型, MTT 法检测不同剂量胡椒碱及其衍生物对损伤心肌细胞的影响。

**结果与结论:**  $7 \times 10^{-9}$  mol/L 胡椒碱、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 胡椒酸甲酯、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L 吡咯烷产物、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L 二乙胺产物可不同程度地提高异丙肾上腺素诱导的心肌细胞损伤模型中心肌细胞的存活比例 ( $P < 0.05$ ), 但未见剂量相关性;  $7 \times 10^{-8}$  mol/L 胡椒碱 ( $P < 0.05$ )、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 吡咯烷产物和  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 二乙胺产物可提升过氧化氢诱导的心肌细胞损伤模型中心肌细胞存活比例, 未见明显的剂量相关性。由此推测胡椒碱及其衍生物可显著缓解异丙肾上腺素和过氧化氢所致的心肌细胞损伤, 且其吡咯烷产物和二乙胺产物作用效果优于胡椒碱。

**关键词:** 胡椒碱; 衍生物; 异丙肾上腺素; 过氧化氢; 心肌细胞

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.37.024

王东晓, 刘屏, 廖洪波, 穆丽华, 马晓菲. 胡椒碱及其衍生物对原代培养心肌细胞损伤的保护作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(37):6943-6946. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

滇产回心草(真藓科植物大叶藓 *Rhodobryum roseum* Limp.)是中国多民族共用的传统草药, 可明显改善心脏病如冠心病、心绞痛患者的临床症状, 疗效确切<sup>[1]</sup>。作者所在课题组首次从该属植物中分离得到生物碱类化合物-胡椒碱(3-(3', 4'-次甲二氧苯基)-戊烯酰哌啶, piperine)<sup>[2]</sup>, 并发现胡椒碱可明显改善缺血心脏血流动力学参数<sup>[3]</sup>、降低过氧化氢损伤心肌细胞悬液中乳酸脱氢酶、肌酸激酶同工酶水平<sup>[4]</sup>, 是回心草心脏保护作用的主要物质基

础。但有关胡椒碱对心脏的直接保护作用研究鲜有报道<sup>[5-7]</sup>。同时, 胡椒碱化学结构相对简单, 具备药效集团的结构特征, 有利于进行结构修饰。

因此, 本次实验采用异丙肾上腺素、过氧化氢( $H_2O_2$ )诱导心肌细胞损伤, 观察了胡椒碱及其衍生物对损伤心肌细胞的保护作用, 为阐明胡椒碱的心脏保护作用、研发新型抗心肌缺血药物提供实验依据。

## 1 材料和方法

**设计:** 细胞生物学体外观察。

Department of Pharmacy, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Wang Dong-xiao★, Master, Associate researcher, Department of Pharmacy, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China  
baixiao301@163.com

Correspondence to: Liu Ping, Master's supervisor, Researcher, Department of Pharmacy, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China  
liuping126@126.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30600801\*; the Military Program of Technological Research of Medical Science, No. 2006266276\*

Received: 2010-02-03  
Accepted: 2010-03-20

解放军总医院药品保障中心, 北京市 100853

王东晓★, 女, 1975年生, 山东省泰安市人, 硕士, 副研究员。主要从事中药药理方面的研究。  
baixiao301@163.com

通讯作者: 刘屏, 硕士生导师, 研究员, 解放军总医院药品保障中心, 北京市 100853  
liuping126@126.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2010)37-06943-04

收稿日期: 2010-02-03  
修回日期: 2010-03-20  
(20091013009/YJ·Z)

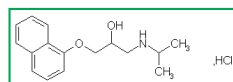
**时间及地点:** 实验于2008-01/10在解放军总医院药品保障中心药理研究室完成。

**动物:** SPF级新生1~3 d的Wistar大鼠15只, 雌雄不限, 购自解放军军事医学科学院实验动物中心, 动物合格证号为0046647。实验过程中对动物的处置符合中华人民共和国科技部2006年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》标准<sup>[8]</sup>。

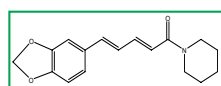
**药物:** 胡椒碱, 购自北京医药采购供应站。胡椒碱衍生物<sup>[9-10]</sup>: 胡椒酸甲酯、胡椒酸乙酯、吡咯烷产物、正丙胺产物、正丁胺产物、二乙胺产物以及N-甲基哌嗪产物由中国人民解放军总医院药理研究室合成制备。

盐酸普萘洛尔(心得安, 批号0805501), 购自天津力生制药股份有限公司。

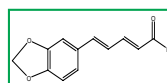
#### 药物结构式:



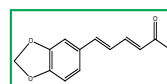
普萘洛尔



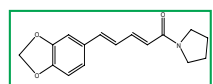
胡椒碱



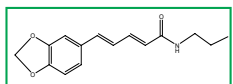
胡椒酸甲酯



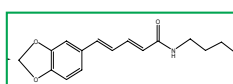
胡椒酸乙酯



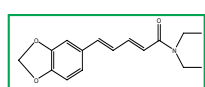
吡咯烷产物



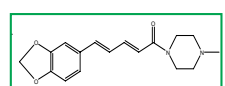
正丙胺产物



正丁胺产物



二乙胺产物



N-甲基哌嗪产物

#### 试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
异丙肾上腺素	上海禾丰制药有限公司
IMDM培养基(Iscove's Modified Dulbecco's medium)、II型胶原酶	美国 Gibco 公司
胰蛋白酶, MTT	美国 Sigma 公司
特级胎牛血清	北京元亨圣马公司
MK型倒置显微镜	日本 Olympus 公司
CO <sub>2</sub> 培养箱	日本 SANYO 公司

#### 方法:

**原代心肌细胞培养:** 乳鼠麻醉, 取出心脏, 以预冷的磷酸盐缓冲液中反复冲洗, 剪碎。用终浓度0.08%胰蛋白酶消化5 min, 弃上清, 再加入终浓度0.05% II型胶原酶和0.04%胰蛋白酶, 37 °C消化5~10 min, 反复吹打, 自然沉淀后弃上清, 加入含血清的IMDM培养基终止消化, 过200目细胞筛, 滤液1 200 r/min离心12 min, 弃上清, 沉淀加入50 mL IMDM培养基重悬细胞, 90 min差速贴壁纯化心肌细胞, 最后加入含体积分数15%胎牛血清的IMEM培养基, 调整细胞浓度为 $5 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$ , 接种于96孔培养板中。培养72 h, 显微镜下见心肌细胞单层同步搏动后进行实验。各细胞培养实验均重复3次<sup>[11]</sup>。

**异丙肾上腺素损伤心肌细胞模型的建立:** 在心肌细胞培养体系中分别加入不同浓度的异丙肾上腺素, 使其终浓度分别为0.1, 1, 10, 50, 100, 200和400  $\mu\text{mol/L}$ , 培养72h后进行MTT检测<sup>[7]</sup>, 从中选择合适的异丙肾上腺素作用浓度。

**胡椒碱及其衍生物对异丙肾上腺素损伤心肌细胞的影响:** 待96孔培养板中心肌细胞形成单层同步搏动后, 将其分为正常组、异丙肾上腺素模型组、普萘洛尔 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 组、胡椒碱及其衍生物的 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 组。除正常组外, 各孔均加入异丙肾上腺素10  $\mu\text{L}$ (终浓度为400  $\mu\text{mol/L}$ ), 然后分别加入普萘洛尔、胡椒碱及其衍生物10  $\mu\text{L}$ , 培养72 h后进行MTT检测<sup>[4]</sup>。

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>损伤心肌细胞模型的建立:** 在心肌细胞培养体系中分别加入不同浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 使其终浓度为10, 50, 100, 200, 500, 1 000和2 000  $\mu\text{mol/L}$ , 培养24 h后进行MTT检测, 从中选择合适的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>作用浓度。

**胡椒碱及其衍生物对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>损伤心肌细胞的影响:** 待96孔培养板中心肌细胞形成单层同步搏动后, 将其分为正常组、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>模型组、普萘洛尔 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 组、胡椒碱及

其衍生物的 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$ ,  $7 \times 10^{-6}$  mol/L组。除正常组外, 各孔均加入 $H_2O_2$  10  $\mu$ L(终浓度为2 000  $\mu$ mol/L), 然后按分组分别加入普萘洛尔、胡椒碱及其衍生物 10  $\mu$ L。每组设6个平行孔。培养24 h后进行MTT检测。

**MTT检测:** 培养结束前4 h, 每孔加入MTT溶液(5 g/L)20  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C体积分数5% $CO_2$ 培育4 h, 终止培养后, 小心吸取孔内培养上清液, 每孔加入150  $\mu$ L DMSO, 振荡10 min, DN-9602G酶联免疫检测仪(北京普朗新技术有限公司)570 nm测量吸光度值(A)<sup>[4]</sup>。

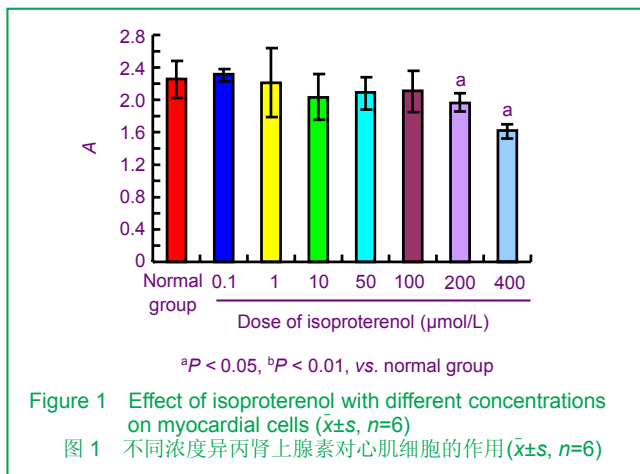
**主要观察指标:** 采用MTT法, 分别于加入异丙肾上腺素后72 h及加入 $H_2O_2$ 后24 h测定各组A值, 选择合适的异丙肾上腺素及 $H_2O_2$ 损伤浓度; 进一步测定药物干预后各组吸光度值, 判断各实验药物对异丙肾上腺素及 $H_2O_2$ 损伤心肌细胞的保护作用。

**设计、实施、评估者:** 实验设计为第一、第二作者, 结果评估为第一作者, 干预实验为第一、三、四、五作者, 均经过系统培训, 未使用盲法评估。

**统计学分析:** 统计处理由第一作者完成。实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 利用CHISS 2004统计软件(北京元义堂科技公司研制, 解放军总医院、首都医科大学等协作完成), 多组间数据比较采用one-way ANOVA方差分析, 组间两两比较采用LSD-*t*法, 检验标准为 $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 不同浓度异丙肾上腺素对心肌细胞的影响** 可见除0.1  $\mu$ mol/L的异丙肾上腺素外, 其他各组A值较正常组均有所下降, 其中200  $\mu$ mol/L组( $P < 0.05$ )和400  $\mu$ mol/L组( $P < 0.01$ )A值显著低于正常组, 见图1。



**2.2 胡椒碱及其衍生物对异丙肾上腺素损伤心肌细胞的作用** 异丙肾上腺素(400  $\mu$ mol/L)作用细胞72 h后可导致心肌细胞存活数量明显下降( $P < 0.01$ ); 而胡椒碱、胡椒酸甲酯、吡咯烷产物和二乙胺产物不同程度地提高心肌细胞的存活量( $P < 0.01$ 或0.05), 其中吡咯烷产物和

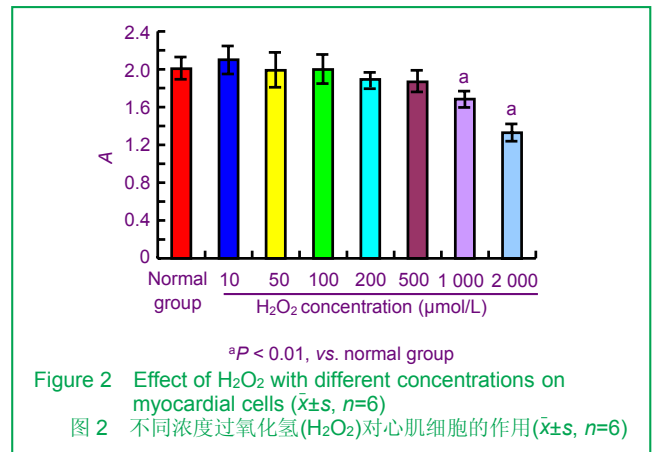
二乙胺产物作用优于胡椒碱, 见表1。

表1 胡椒碱及其衍生物对异丙肾上腺素损伤心肌细胞的作用  
Table 1 Effects of piperine and its derivates on isoproterenol-induced damage of myocardial cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Group	Drug concentration (mol/L)		
	$7 \times 10^{-8}$	$7 \times 10^{-7}$	$7 \times 10^{-6}$
Normal		1.68 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	
Isoproterenol model		1.26 $\pm$ 0.09	
Propranolol	1.39 $\pm$ 0.08	1.37 $\pm$ 0.12	1.49 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
Piperine	1.42 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.3 $\pm$ 0.10	1.37 $\pm$ 0.05
Methyl piperate	1.44 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	1.43 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.10
Piperinic acid ethyl ester	1.38 $\pm$ 0.13	1.33 $\pm$ 0.11	1.38 $\pm$ 0.15
Pyrrolidine products	1.71 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.64 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.42 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
Propylamine products	1.29 $\pm$ 0.09	1.40 $\pm$ 0.04	1.34 $\pm$ 0.11
N-butylamine products	1.39 $\pm$ 0.21	1.36 $\pm$ 0.17	1.35 $\pm$ 0.14
Diethylamine products	1.74 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	1.77 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.56 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
N-methylpiperazine products	1.32 $\pm$ 0.11	1.29 $\pm$ 0.15	1.34 $\pm$ 0.11

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs. isoproterenol model group

**2.3 不同浓度 $H_2O_2$ 对心肌细胞的影响** 浓度大于50  $\mu$ mol/L  $H_2O_2$ 可以抑制心肌细胞的存活, 1 000, 2 000  $\mu$ mol/L  $H_2O_2$ 组A值显著降低( $P < 0.01$ ), 见图2。



**2.4 胡椒碱及其衍生物对 $H_2O_2$ 损伤心肌细胞的作用** 见表2。

表2 胡椒碱及其衍生物对过氧化氢损伤心肌细胞的作用  
Table 2 Effects of piperine and its derivates on  $H_2O_2$ -induced damage of myocardial cells ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Group	Drug concentration (mol/L)		
	$7 \times 10^{-8}$	$7 \times 10^{-7}$	$7 \times 10^{-6}$
Normal		1.26 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	
Isoproterenol model		0.72 $\pm$ 0.06	
Propranolol	0.75 $\pm$ 0.15	0.90 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>	0.86 $\pm$ 0.16
Piperine	0.89 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.74 $\pm$ 0.16	0.70 $\pm$ 0.09
Methyl piperate	0.81 $\pm$ 0.13	0.84 $\pm$ 0.09	0.80 $\pm$ 0.12
Piperinic acid ethyl ester	0.75 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.16	0.82 $\pm$ 0.10
Pyrrolidine products	0.94 $\pm$ 0.29 <sup>a</sup>	0.98 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.78 $\pm$ 0.06
Propylamine products	0.89 $\pm$ 0.11	0.92 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	0.88 $\pm$ 0.14
N-butylamine products	0.80 $\pm$ 0.12	0.84 $\pm$ 0.21	0.85 $\pm$ 0.20
Diethylamine products	0.98 $\pm$ 0.20 <sup>b</sup>	0.96 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>	0.84 $\pm$ 0.17
N-methylpiperazine products	0.83 $\pm$ 0.04	0.76 $\pm$ 0.09	0.79 $\pm$ 0.13

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ , vs.  $H_2O_2$  model group

$7 \times 10^{-8}$  mol/L 胡椒碱、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 吡咯烷产物、 $7 \times 10^{-7}$  mol/L 正丙胺产物、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 二乙胺产物均可使  $H_2O_2$  损伤心肌细胞存活数量明显上升 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 但未见明显的剂量相关性。

### 3 讨论

交感神经系统过度激活, 可释放大量的儿茶酚胺类物质, 作用于心肌  $\beta$ -受体, 引起心肌相对缺血缺氧, 这是心肌缺血、心肌梗死、心力衰竭等许多疾病的重要环节之一<sup>[12]</sup>。大剂量给予  $\beta$ -受体激动剂——异丙肾上腺素可造成大鼠弥散性、局灶性心肌坏死、心脏增大、心肌组织钙积聚、脂质过氧化增强<sup>[13]</sup>。本次实验以  $400 \mu\text{mol/L}$  异丙肾上腺素刺激原代培养心肌细胞 72 h, 心肌细胞存活量较正常组显著降低, 给予胡椒碱及其衍生物后, 发现胡椒碱、胡椒酸甲酯、吡咯烷产物、二乙胺产物可显著提高其存活量, 与普萘洛尔 ( $\beta$ -受体阻滞剂) 作用相当, 其中吡咯烷产物和二乙胺产物可使心肌细胞存活量恢复至正常水平, 表明胡椒碱及其衍生物(胡椒酸甲酯、吡咯烷产物、二乙胺产物)可显著对抗大剂量异丙肾上腺素导致的心肌缺血缺氧损伤, 该作用可能与阻断  $\beta$ -受体有关, 其中吡咯烷产物和二乙胺产物的作用优于胡椒碱。  $H_2O_2$  具有严重的心脏毒性<sup>[14-16]</sup>, 可用于模拟心肌细胞的氧化损伤。本次实验中,  $2000 \mu\text{mol/L}$   $H_2O_2$  可使心肌细胞存活量显著降低, 而  $7 \times 10^{-8}$  mol/L 胡椒碱、 $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 吡咯烷产物和  $7 \times 10^{-8}$ ,  $7 \times 10^{-7}$  mol/L 二乙胺产物则可显著提高  $H_2O_2$  损伤心肌细胞存活率, 提示胡椒碱及其吡咯烷产物、二乙胺产物具有明显的抗氧化损伤活性, 其中吡咯烷产物和二乙胺产物的作用强于胡椒碱。

综上所述, 胡椒碱可显著缓解异丙肾上腺素所致的心肌细胞损伤, 对过氧化氢诱导的心肌细胞氧化损伤也有明显的保护作用, 推测其可能具有一定的  $\beta$ -受体阻断作用, 同时具有较强的抗氧化活性。其衍生物吡咯烷产物、二乙胺产物在异丙肾上腺素和过氧化氢诱导的心肌细胞损伤模型上表现出了较胡椒碱更强的保护作用, 可为研发新的抗心肌缺血药物提供新的先导化合物。但本次实验仅采用体外模型观察胡椒碱及其衍生物对心肌细胞损伤的保护作用, 其对整体动物的心脏保护作用、活性化合物的最佳作用剂量、作用时间及作用机制尚需进一步探讨。

### 4 参考文献

[1] Ma Y, Yang YC. Shaanxi Zhongyi. 1989;10(6):256-257. 马援, 杨易灿. 回心草治疗冠心病 101 例疗效观察[J]. 陕西中医, 1989, 10(6):256-257.  
[2] Wang B, Liu P, Shen YM, et al. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 2005; 30(12):895-897. 王波, 刘屏, 沈月毛, 等. 回心草化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(12):895-897.

[3] Wang DX, Liu P, An N, et al. Zhongguo Yaowu Yingyong yu Jiance. 2007;4(3):17-20. 王东晓, 刘屏, 安娜, 等. 回心草活性成分对实验性心肌缺血血流动力学的影响[J]. 中国药物应用与监测, 2007, 4(3): 17-20.  
[4] Wang B, Sun Y, Liu P, et al. Jiefangjun Yaxue Xuebao. 2006; 22(3):164-167. 王波, 孙艳, 刘屏, 等. 回心草单体成分对  $H_2O_2$  诱导心肌细胞损伤的保护作用研究[J]. 解放军药理学学报, 2006, 22(3):164-167.  
[5] Vijayakumar RS, Surya D, Nalini N. Antioxidant efficacy of black pepper (Piper nigrum L.) and piperine in rats with high fat diet induced oxidative stress. Redox Rep. 2004;9(2):105-110.  
[6] Lee CS, Han ES, Kim YK. Piperine inhibition of 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced mitochondrial dysfunction and cell death in PC12 cells. Eur J Pharmacol. 2006;537(1-3): 37-44.  
[7] Mo ZR, Zhang Q. Hainan Shifan Xueyuan Xuebao: Ziran Kexue Ban. 2006;19(1):52-54. 莫峥嵘, 张岐. 胡椒碱的抗氧化活性及稳定性研究[J]. 海南师范学院学报(自然科学版), 2006, 19(1):52-54.  
[8] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals. 2006-09-30.  
[9] Koul S, Koul JL, Taneja SC, et al. Structure-activity relationship of piperine and its synthetic analogues for their inhibitory potentials of rat hepatic microsomal constitutive and inducible cytochrome P450 activities. Bioorg Med Chem. 2000;8(1):251-268.  
[10] Wei K, Li W, Koike K, et al. Cobalt(II)-catalyzed intermolecular Diels-Alder reaction of piperine. Org Lett. 2005;7(14):2833-2835.  
[11] Kang S, Kim JW, Park NH, et al. Interleukin-1 beta-511 polymorphism and risk of cervical cancer. J Korean Med Sci. 2007; 22(1):110-113.  
[12] Niu P, Shindo T, Iwata H, et al. Protective effects of endogenous adrenomedullin on cardiac hypertrophy, fibrosis, and renal damage. Circulation. 2004;109(14):1789-1794.  
[13] Ramaswami G, Chai H, Yao Q, et al. Curcumin blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. J Vasc Surg. 2004;40(6):1216-1222.  
[14] Pan CJ, Tang JJ, Shao ZY, et al. Improved blood compatibility of rapamycin-eluting stent by incorporating curcumin. Colloids Surf B Biointerfaces. 2007;59(1):105-111.  
[15] Li HL, Liu C, de Couto G, et al. Curcumin prevents and reverses murine cardiac hypertrophy. J Clin Invest. 2008;118(3):879-893.  
[16] Morimoto T, Sunagawa Y, Kawamura T, et al. The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. J Clin Invest. 2008; 118(3): 868-878.

#### 来自本文课题的更多信息—

**基金资助:** 国家自然科学基金资助项目 (30600801), 课题名称: 基于民间草药回心草中活性化合物的构效关系研究, 全军医药卫生科研基金课题(2006266276), 课题名称: 基于草药大叶蕨活性先导化合物的修饰研发对抗外周及中枢疲劳新药。

**致谢:** 感谢国家自然科学基金委员会、总后卫生部给予本项研究的基金资助。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**课题的意义:** 本课题采用具有抗氧化作用、抗自由基损害等功能的胡椒碱作为先导化合物, 研究其构效关系, 为研发新型抗心肌缺血药物奠定基础, 同时也为从修饰改造活性先导化合物出发研发新药提供新的思路。

**课题评估的“金标准”:** 本文仅采取 MTT 法检测心肌细胞存活情况, 虽然对于细胞存活情况不能像流式细胞仪一样精准, 但也能从一定程度上反映细胞的数量。

**设计或课题的偏倚与不足:** ①本课题仅采用体外模型观察胡椒碱及其衍生物对心肌细胞损伤的保护作用, 其具体的作用机制及对整体动物的心脏保护作用尚需进一步探讨。②实验中未发现胡椒碱及其衍生物的活性与剂量间的相关性, 其最佳作用剂量范围、作用时间有待深入研究。

**提供临床借鉴的价值:** 胡椒碱具有多种药理作用, 但目前有关其对心脏的直接保护作用鲜有报道。本课题可为研发低毒高效的新型抗心肌缺血药物奠定基础。